

УРОВНИ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ, МАКРОГЛОБУЛИНОВ И ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН, ПРИНИМАЮЩИХ ОРАЛЬНЫЕ КОНТРАЦЕПТИВЫ

Зорина В.Н., Керемецкая Е.В., Баженова Л.Г.,
Зорина Р.М.

ГОУ ДПО Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей Росздрава, г. Новокузнецк

Резюме. Исследовано влияние низко- и микродозированных комбинированных оральных контрацептивов (КОК) на содержание в сыворотке крови белков семейства макроглобулинов (альфа-2-макроглобулин – МГ и ассоциированный с беременностью альфа-2-гликопротеин – АБГ), их иммунных комплексов с IgG и уровни цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN γ). Показано, что уровни цитокинов достоверно не изменяются, концентрации МГ снижаются при длительном (более 2 лет) приеме микродозированных КОК, содержание АБГ увеличивается в десятки раз вне зависимости от дозировки и длительности приема. При этом содержание комплексов АБГ-IgG постепенно снижается, а МГ-IgG – повышается. Учитывая, что АБГ является маркером пролиферации, в том числе злокачественной, мы рекомендуем динамическое наблюдение за его уровнями при назначении КОК для выявления «группы риска» с высокими показателями.

Ключевые слова: комбинированные оральные контрацептивы, риск онкопролиферации, альфа-2-макроглобулин, ассоциированный с беременностью альфа-2-гликопротеин, цитокины, иммунные комплексы.

Zorina V.N., Keremetskaya E.V., Bagenova L.G., Zorina R.M.

LEVELS OF KEY CYTOKINES, MACROGLOBULINS AND THEIR SPECIFIC IMMUNE COMPLEXES IN BLOOD SERA OF WOMEN TAKING COMBINED ORAL CONTRACEPTIVES

Abstract. We investigated effects of combined oral contraceptives (COC) containing low- and microdoses of estrogenic components upon serum levels of macroglobulin family proteins (alpha-2-macroglobulin, α 2-MG, and pregnancy-associated alpha-2-glycoprotein, α 2-PAG), their immune complexes with IgG, as well as concentrations of some cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN γ). It was shown that cytokine levels did not differ with control, whereas α 2-MG concentrations showed a time-dependent decrease in a group of women taking COC with microdoses of estrogens, and α 2-PAG levels increased tenfold, independent on dosage and time of COC application. Meanwhile, contents of PAG-IgG complexes exhibits a gradual decrease, along with increase in MG-IgG. Considering PAG as a marker of normal and malignant proliferation, we suggest,

that the levels of α 2-PAG may be useful in monitoring of women taking COC, in order to predict high risk of pathological proliferation by evaluation of individuals with elevated α 2-PAG levels. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 6, pp 635-638)

Адрес для переписки:

Зорина Вероника Николаевна,
Лаборатория иммунологии ГОУ ДПО НГИУВ
654005, г. Новокузнецк, Кемеровская обл.,
пр. Строителей, 5.
Тел.: (3843) 45-84-18, 45-56-41.
E-mail: macroglobulin@yandex.ru

Keywords: combined oral contraceptives, malignant proliferation risk, alpha-2-macroglobulin, pregnancy-associated alpha-2-glycoprotein, cytokines, immune complexes.

Введение

Известно, что у женщин, принимающих гормон-содержащие препараты в целях контрацепции, повышен риск развития пролиферативных процессов, включая злокачественные. Современные подходы к разработке подобных препаратов, направленные на минимизацию концентрации гормональных компонентов при сохранении их эффективности, в целом позволяют снизить количество подобных осложнений. Однако показано, что у женщин, начавших принимать гормон-содержащие комбинированные оральные контрацептивы (КОК) в возрасте до 20 лет риск развития рака молочной железы выше, чем в более зрелом возрасте. В частности, с увеличением «возраста начала приема», отмечено снижение на 20% в возрасте 30-34 года и на 35% в возрасте 35-40 лет по сравнению с 20-30 летними. При этом в целом не обнаружено значительных различий в «степени риска» между группами с различным составом препаратов и дозировкой компонентов [6]. Известно, что гормональная контрацепция влияет на липидный обмен [10], минеральный обмен [7], и даже на сексуальную привлекательность [9]. Тем не менее, вышеперечисленные процессы не связаны напрямую с изменениями в иммунной системе и далеко не в полной мере объясняют, вследствие чего развивается патологическая пролиферация клеток.

Для уточнения данного вопроса мы изучили изменения в сыворотке крови уровней некоторых цитокинов, содержание которых изменяется при злокачественной пролиферации [3,11,14], а также уровни двух белков семейства макроглобулинов, являющихся основными транспортерами изученных цитокинов к клеткам мишеням и концентрации их иммунных комплексов с иммуноглобулином класса G (IgG) при применении микро- и низкодозированных КОК в целях контрацепции. В частности, было изучено содержание альфа-2-макроглобулина (МГ) – основного представителя семейства, универсального ингибитора протеиназ и регулятора межклеточных взаимодействий путем транспорта факторов роста, цитокинов, липидов и других регуляторных субстанций [4,5], а также содержание ассоциированного с беременностью альфа-2-гликопротеина (АБГ) – минорного представителя семейства, структурного и функционального аналога МГ, концентрация которого повышается в десятки раз при беременности, раке молочной железы и яичников [13].

Материалы и методы

Было обследовано 88 женщин (средний возраст $26 \pm 0,9$ лет), принимающих микро-и низко-

дозированные комбинированные оральные контрацептивы (КОК) в течение 1 года, 2-х и более 2-х лет (3-5 лет). Из них 56 женщин принимали микродозированные КОК, содержащие 20 мкг этинилэстрадиола: «Новинет» (Gedeon Richter, Венгрия), «Линдинет 20» (Gedeon Richter, Венгрия), «Джес» (Schering, Германия). 32 женщины принимали низкодозированные КОК. В число последних, содержащих 30 мкг этинилэстрадиола, входили «Ригевидон» (Gedeon Richter, Венгрия), «Ярина» (Schering, Германия), «Регулон» (Gedeon Richter, Венгрия), «Жанин» (Jenapharm, Германия), «Диане-35» (Schering, Германия). В качестве контрольной группы использовалась сыворотка 43 практически здоровых женщин сопоставимого возраста ($23,8 \pm 0,4$ лет), не принимающих КОК в целях контрацепции.

Содержание МГ и АБГ в сыворотке крови оценивали методом количественного ракетного иммуноэлектрофореза [1]. Уровни IL-6, IL-1 β , TNF α и IFN γ исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи коммерческих тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Концентрации иммунокомплексов МГ-IgG и АБГ-IgG определяли при помощи авторской модификации ИФА метода [2].

Для статистической обработки результатов использовалась программа для биостатистики InStat II (SIGMA, США), Применялось парное межгрупповое сравнение показателей по критерию Стьюдента, а также ANOVA тест. Параметры, приводимые в работе, имеют следующее обозначение: \bar{M} – средняя, $\pm m$ – ошибка средней, n – объем анализируемой выборки, p – степень достоверности различий. Критическое значение уровня значимости – 0,05.

Результаты и обсуждение

Нами установлено, что уровни иммунорегуляторного IL-6 и IFN γ в сыворотке крови, равно как и концентрации классических провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF α , в среднем, достоверно не отличались от контрольных показателей при приеме КОК, вне зависимости от длительности приема препарата и дозировки эстрогенового компонента (табл. 1).

В то же время уровни транспортирующего все вышеперечисленные белки МГ в процессе приема микродозированных КОК постепенно снижались, и не изменялись при приеме низкодозированных.

Напротив, содержание иммунных комплексов МГ-IgG значимо повышалось спустя 2 года приема КОК в сравнении с контрольной группой. При этом, зависимости концентраций иммунных комплексов МГ-IgG в сыворотке крови от дозы

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ЦИТОКИНОВ, МАКРОГЛОБУЛИНОВ И ИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН, ПРИНИМАЮЩИХ ОРАЛЬНЫЕ КОНТРАЦЕПТИВЫ (M±m)

Показатели	Контроль	Микродозированные КОК			Низкодозированные КОК		
		До 1 года	1-2 года	Более 2 лет	До 1 года	1-2 года	Более 2 лет
IL-6 (пкг/мл)	3,9±0,9	2,1±0,6	8,3±5,4	1,2±0,8	4,1±2,0	1,7±0,4	4,5±2,6
IL-1β (пкг/мл)	3,5±1,1	5,2±2,3	2,6±2,0	5,2±3,0	0,3±0,3	1,0±0,4	2,1±1,1
TNFα (пкг/мл)	4,5±0,8	3,9±1,4	8,1±3,8	1,1±0,9	0,3±0,3	2,9±0,8	7,2±3,8
IFNγ (пкг/мл)	3,3±1,5	1,5±0,9	2,9±1,5	0,3±0,3	6,5±3,2	0,8±0,6	2,1±1,4
МГ (г/л)	2,59±0,12	2,51±0,11	2,40±0,22	1,79±0,18*	2,40±0,26	2,44±0,22	2,55±0,20**
МГ-IgG (мкг/мл)	0,90±0,14	1,08±0,15	1,26±0,3	2,34±0,46* ***	0,62±0,19	1,23±0,24	2,18±0,43**
АБГ (г/л)	0,005±0,001	0,110±0,013*	0,147±0,020*	0,119±0,084*	0,114±0,051*	0,156±0,052*	0,100±0,013*
АБГ-IgG (мкг/мл)	2,19±0,16	2,39±0,22	1,52±0,32* ***	0,73±0,24* ***	2,53±0,33	1,58±0,3* ***	1,55±0,3* ***

Примечание. Достоверность различий (p) в сравнении с: * – контролем; ** – микро- с низкодозированными КОК в сходный период наблюдений; *** – внутри подгрупп микро- либо низкодозированные КОК в разные сроки наблюдений.

эстрогенового компонента КОК нами не обнаружено.

Независимо от вида принимаемых КОК, концентрации АБГ значительно (в 20-23 раза) повышались уже в 1-й год, продолжали нарастать в течение 2-го года приема, а затем снижались до уровней, характерных для первого года приема препаратов. Установлено, что уровни АБГ выше допустимой нормы наблюдались у 86% женщин, принимающих микродозированные КОК в течение 1 года, и только у 67% женщин, принимающих аналогичные препараты более года. При этом, прием низкодозированных КОК в течение 1 года сопровождался повышенной концентрацией АБГ у 78% женщин, тогда как при более длительном применении данных препаратов высокие концентрации белка определялись у 92-100% женщин.

Уровни комплексов АБГ с IgG в сыворотке крови, напротив, изначально не изменялись, а при длительном применении микродозированных КОК (1 год и более) статистически значимо снижались.

Относительно небольшие группы обследованных, на фоне большой индивидуальной вариабельности уровней цитокинов, могли послужить одной из причин отсутствия достоверных различий с контрольными показателями. С другой стороны, полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что препараты КОК, вне

зависимости от дозировки и длительности применения, не оказывают существенного влияния на содержание цитокинов в циркуляции и, следовательно, данные показатели не могут служить в качестве маркеров при оценке риска развития злокачественной пролиферации. В то же время изменения в содержании основного транспортера цитокинов – альфа-2-макроглобулина (МГ) и увеличение содержания его иммунных комплексов с IgG, проявляющиеся при длительном приеме КОК и сопровождающиеся значительным увеличением концентраций ассоциированного с беременностью альфа-2-гликопротеина (АБГ, структурный аналог МГ, дублирующий его функции), позволяют выдвинуть предположение о причинах развития онкопролиферации на фоне длительного приема КОК. Известно, что при приеме КОК снижается антиоксидантный потенциал крови [12]. Ранее установлено, что окисление МГ снижает сродство к рецепторам и изменяет его сродство к цитокинам и факторам роста [14]. О необратимом повреждении все большего количества молекул МГ свидетельствует выявленное нами увеличение количества антител к нему на фоне длительного приема КОК. При этом известно, что АБГ не подвержен подобному «окислению» [8], что и подтвердило наше исследование, зафиксировавшее неизменность и даже некоторое снижение содержания АБГ-IgG в крови.

Таким образом, при длительном приеме КОК у ряда женщин, предположительно, происходит значительное повреждение молекул МГ, приводящее к нарушениям транспорта и синтеза белков, контролируемых МГ (являющегося универсальным регуляторно-транспортным белком жидких сред и отдельным звеном иммунной системы [4, 5]), на фоне выраженной активации синтеза АБГ и перехода к нему части функций МГ. Учитывая, что АБГ является активнейшим стимулятором пролиферации, особенно злокачественной [13], подобный механизм может быть ключевым при развитии онкопролиферативных процессов на фоне приема гормональных препаратов. Так или иначе, для профилактики патологической пролиферации мы рекомендуем исследовать уровень АБГ у женщин принимающих КОК более года, выявляя индивидуумов с высокими уровнями (группу «повышенного риска»), а далее рекомендовать отмену препарата и переход на другие виды контрацепции, либо проводить индивидуальный подбор препарата, который не стимулирует синтез АБГ, а следовательно более безопасен для применения данной группой женщин.

Список литературы

1. Зорин Н.А., Жабин С.Г., Лыкова О.Ф., Зорина Р.М., Горин В.С., Белогорлова Т.И., Чирикова Т.С., Краюшкина Н.А. Белки плазмы и сыворотки крови доноров // Клини. лаб. диагн. — 1992. — № 9-10. — С. 13-15.
2. Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г., Воронина Е.А., Зорин Н.А. Концентрация комплексов макроглобулин — IgG, как возможный критерий для прогнозирования гестоза и оценки степени его тяжести // Клини. лаб. диагн. — 2001. — № 8. — С. 48-49.
3. Зорина В.Н., Промзелева Н.В., Третьякова Т.В., Баженова Л.Г., Рябичева Т.Г., Архипова С.В., Зорина Р.М. Изменения цитокинового профиля, а также уровней белков транспортеров при пролиферативных заболеваниях придатков матки // Медицинская иммунология. — 2009. — № 11 (2-3). — С. 185-191.
4. Armstrong P.B., Quigley J.P. Alpha-2-macroglobulin: an evolutionary conserved arm of the innate immune system // Dev. Comp. Immunol. — 1999. — Vol. 23. — P. 375-390.
5. Birkenmeier G. Targetting the proteinase inhibitor and immune modulatory function of human alpha 2-macroglobulin // Mod. Asp. Immunobiol. — 2001. — Vol. 2. — P. 32-36.
6. Bjelic-Radisic V., Petru E. Hormonal contraception and breast cancer risk // Wien Med Wochenschr. — 2010. — Vol. 160, N 19-20. — P. 483-486.
7. Bonny A.E., Secic M., Cromer B.A. Relationship between Weight and Bone Mineral Density in Adolescents on Hormonal Contraception // J. Pediatr. Adolesc. Gynecol. — 2011. — Vol. 24, N 1. — P. 35-38.
8. Chiabrando G.A., Vides M.A., Sanchez M.C. Differential binding properties of human pregnancy zone protein- and alpha2-macroglobulin-proteinase complexes to low-density lipoprotein receptor-related protein // J. Arch. Biochem. Biophys. — 2002. — Vol. 398, N 1. — P. 73-78.
9. Crawford J.C., Boulet M., Drea C.M. Smelling wrong: hormonal contraception in lemurs alters critical female odour cues // Proc. Biol. Sci. — 2011. — Vol. 278, N 1702. — P. 122-130.
10. Kriplani A., Periyasamy A.J., Agarwal N., Kulshrestha V., Kumar A., Ammini A.C. Effect of oral contraceptive containing ethinyl estradiol combined with drospirenone vs. desogestrel on clinical and biochemical parameters in patients with polycystic ovary syndrome // Contraception. — 2010. — Vol. 82, N 2. — P. 139-146.
11. Lukaszewicz M., Mroczko B., Szmitkowski M. Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) as a prognostic factor of cancer disease // Pol. Arch. Med. Wewn. — 2007. — Vol. 117, N 5-6. — P. 247-251.
12. Palan P.R., Strube F., Letko J., Sadikovic A., Mikhail M.S. Effects of oral, vaginal, and transdermal hormonal contraception on serum levels of coenzyme q(10), vitamin e, and total antioxidant activity // Obstet Gynecol Int. — 2010. — pii: 925635.
13. Petersen C.M. Alpha 2-macroglobulin and pregnancy zone protein/ Serum level, Alpha 2-macroglobuline receptors, cellular synthesis and aspects of function relation to immunology // Dan. Med. Bull. — 1993. — Vol. 40. — P. 409-446.
14. Wu S.M., Patel D.D., Pizzo S.V. Oxidized alpha2-macroglobulin (alpha 2M) differentially regulates receptor binding by cytokines/growth factors: implications for tissue injury and repair mechanisms in inflammation // J. Immunol. — 1998. — Vol. 161, N 8. — P. 4356-4365.

поступила в редакцию 20.05.2011
отправлена на доработку 06.06.2011
принята к печати 16.06.2011